

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**INFLUÊNCIA DO ÔMEGA 3 SOBRE SINTOMAS
EXTRAPIRAMIDAIS, DEFICIÊNCIA COGNITIVA E
PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM
ANIMAIS TRATADOS COM NEUROLÉPTICOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Raquel Cristine Silva Barcelos

**Santa Maria, RS, Brasil
2009**

**INFLUÊNCIA DO ÔMEGA 3 SOBRE SINTOMAS
EXTRAPIRAMIDAIS, DEFICIÊNCIA COGNITIVA E
PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM ANIMAIS
TRATADOS COM NEUROLÉPTICOS**

por

Raquel Cristine Silva Barcelos

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de Concentração em Neuropsicofarmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Farmacologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marilise Escobar Bürger

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
Aprova a Dissertação de Mestrado

**INFLUÊNCIA DO ÔMEGA 3 SOBRE SINTOMAS EXTRAPIRAMIDAIS,
DEFICIÊNCIA COGNITIVA E PARÂMETROS DE ESTRESSE
OXIDATIVO EM ANIMAIS TRATADOS COM NEUROLÉPTICOS**

elaborada por
Raquel Cristine Silva Barcelos

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Farmacologia

Comissão Examinadora

Marilise Escobar Bürger, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Roselei Fachinetto, Dr^a. (UNICRUZ)

João Batista Teixeira da Rocha, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 17 de julho de 2009.

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me conduzido e por todas as pessoas colocadas em meu caminho durante este trabalho.

Aos meus pais, Rubens e Eronita, e aos meus irmãos, pelo grande incentivo, ajuda e amor. Vocês são um presente de Deus, meu porto-seguro.

Ao Cristian, pela paciência, carinho e apoio incondicionais e fundamentais.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Marilise Escobar Bürger, pela acolhida e confiança, pelos ensinamentos e sabedoria. *“Um professor influi para a eternidade; nunca se pode dizer até onde vai sua influência”* (Henry B. Adams).

Às minhas amigas e companheiras de batalha Patrícia Reckziegel, Liz Girardi Müller, Camila Simonetti Pase, ao Filipe Corsini da Silva e ao Marlon Both Duarte, especialmente à Nardeli Boufleur e Dalila Moter Benvegnú, sempre prontas para ajudar. Obrigada pelo trabalho e amizade. Aprendi muito com vocês.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Farmacologia, que contribuíram para minha formação, meu agradecimento.

Aos animais utilizados, meios para a realização deste trabalho, todo o meu respeito e gratidão.

À Universidade Federal de Santa Maria, por disponibilizar cursos de Pós-Graduação gratuitos e de qualidade e por garantir o acesso universal ao conhecimento.

Um pouco de ciência nos afasta de Deus.

Muito, nos aproxima.

Louis Pasteur

RESUMO

Dissertação de mestrado
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia
Universidade Federal de Santa Maria

INFLUÊNCIA DO ÔMEGA 3 SOBRE SINTOMAS EXTRAPIRAMIDAIS, DEFICIÊNCIA COGNITIVA E PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM ANIMAIS TRATADOS COM NEUROLÉPTICOS

AUTORA: Raquel Cristine Silva Barcelos
ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Marilise Escobar Bürger

LOCAL E DATA DA DEFESA: Santa Maria, julho de 2009

Neurolépticos típicos como haloperidol e flufenazina são amplamente empregados no tratamento das doenças mentais, cujo uso crônico está associado a efeitos adversos que afetam as funções motoras e de memória, entre outras. Os distúrbios motores podem ser mais brandos, e incluem tremores, acatisia, distonias, como também uma síndrome mais grave, a discinesia tardia (DT). Estudos têm demonstrado que os ácidos graxos poliinsaturados (AGPIs) podem afetar as funções fisiológicas envolvidas nos distúrbios do movimento e de memória, através da composição da membrana fosfolipídica das células neuronais. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da suplementação dos AGPIs n-3 (ômega-3) sobre a discinesia orofacial e a disfunção de memória induzidas por haloperidol e flufenazina, designados como experimento 1 e 2, respectivamente. Em ambos os experimentos, ratos Wistar machos receberam no lugar da água de beber, uma suspensão com cápsulas de óleo de peixe (OP), cuja composição foi determinada através de cromatografia gasosa (EPA-20%, DHA 6%, ácido linolênico 0,4%), ou veículo (C). Após 8 semanas de tratamento, metade dos animais de cada grupo experimental receberam uma administração semanal de neuroléptico (12 mg/kg/mL;im) (H-haloperidol e F-flufenazina, nos experimentos 1 e 2 respectivamente) ou veículo por 4 semanas. Durante este tratamento a ingestão *ad libitum* de ômega-3 na água de beber foi mantida. Os animais foram semanalmente observados para a quantificação da discinesia orofacial (DO) (incidência de movimentos de mascar no vazio - VCM) no 7º, 14º, 21º e 28º dias após a primeira administração de neuroléptico ou veículo. Logo após cada observação orofacial, todos os animais tratados com neurolépticos (grupos H e OP+H,

experimento 1; F e OP+F, experimento 2) foram submetidos à quantificação do tempo de catalepsia. Na última semana de tratamento, de ambos os experimentos foram submetidos ao teste de memória em “water-maze”, após 4 dias de treinamento. No 8º dia após a última administração de neuroléptico/veículo, os ratos foram sacrificados por exsanguinação (punção cardíaca), com coleta de sangue e retirada de tecidos cerebrais (substância-negra e hipocampo) para determinação de parâmetros de peroxidação lipídica. Os dados da DO (VCMs) foram analisados por ANOVA de três vias com medida repetida, seguida por teste de Duncan e teste *T* pareado; O tempo de catalepsia foi avaliado por ANOVA de uma via com medida repetida, seguida de teste *T* pareado; Resultados obtidos em paradigma de labirinto aquático e avaliações de peroxidação lipídica (TBARS) foram avaliados por ANOVA de duas vias seguida de teste de Duncan. Foram considerados significativos os valores de $P < 0.05$, para todas as avaliações. O ômega-3 diminuiu as desordens motoras (VCM e tempo de catalepsia), os prejuízos de memória e parâmetros de peroxidação lipídica induzidos pelos neurolépticos, sugerindo que esses efeitos estão relacionados com as propriedades anti-apoptóticas dos ácidos graxos essenciais.

Nossos resultados ressaltam a importância da inclusão de ácidos graxos n-3s na dieta ou através da sua suplementação, os quais podem prevenir ou atenuar distúrbios motores e de memória, frequentemente relacionados ao tratamento crônico com neurolépticos típicos, que até o momento não dispõe de um tratamento eficaz.

Palavras-chave: ômega-3; neurolépticos; desordens motoras, disfunção de memória e peroxidação lipídica.

ABSTRACT

Haloperidol and fluphenazine are typical neuroleptics widely used in the treatment of mental illness, whose chronic use is associated with adverse effects that affect the motor function and memory, among others. The motor disturbances can be moderate, and include parkinsonism, akathisia, dystonia, but also a more severe syndrome, known as tardive dyskinesia (TD). Studies have shown that essential polyunsaturated fatty acids (EPUFAs) may affect physiological functions involved in movement and memory disorders through of the membrane phospholipid composition of neuronal cells. This study investigated the effects of supplementation of EPUFA (omega-3) on orofacial dyskinesia and memory dysfunction induced by haloperidol and fluphenazine, designated as experiment 1 and 2, respectively. In both experiments, male Wistar rats received in place of drinking water, a suspension with capsules of fish oil (FO), whose composition was determined by gas chromatography (EPA-20%, DHA- 6%, linolenic acid- 0, 4%), or vehicle (C). After 8 weeks of treatment, half the animals of each experimental group received a weekly administration of neuroleptic (12mg/kg/mL-im) (H-haloperidol or F-fluphenazine in experiments 1 and 2, respectively) or vehicle for 4 weeks. The intake of omega-3 *ad libitum* in the drinking water was maintained during this time. The animals were observed weekly for the quantification of orofacial dyskinesia (OD), (vacuous chewing movements frequency- VCM) in 7th, 14th, 21st and 28th days after the first dose of neuroleptic/vehicle. Immediately after each orofacial observation, the rats treated with neuroleptic (H and FO+H, experiment 1, F and FO+F, experiment 2) were submitted to catalepsy-time quantifications. In the last week of treatment, the rats of both experiments were previously trained for 4 consecutive days and submitted to memory test in water-maze task. On the 8th day after the last dose of neuroleptic/vehicle, the rats were sacrificed by exsanguinations (by cardiac puncture), with blood collection and removal of brain tissue (hippocampus and substantia nigra) for determination of lipid peroxidation. Data of OD (VCMs) and catalepsy time were analyzed by three-way and one way ANOVA with repeated measure, respectively, followed by Duncan's test (VCMs only) and paired *T* test; Data of water-maze task and assessments of lipid peroxidation (TBARs) were evaluated by two way ANOVA followed by Duncan's test. Statistical significances were considered for *P* <0.05 values for all assessments. The omega-3 decreased the motor disorders (VCMs and catalepsy time), the loss of memory and parameters of lipid peroxidation induced by neuroleptics, suggesting that these effects are related to the anti-apoptotic properties of EPUFAs. Our results emphasize the importance of including fatty acids n-3 from diet or its

supplementation, which may prevent or reduce motor and memory disorders, often related to chronic treatment with typical neuroleptics, which until now has no effective treatment.

Keywords: ω -3 essential fatty acids; neuroleptic; motor disorders, memory dysfunction and lipid peroxidation.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ácido α -linolênico - ALA

Ácido Araquidônico - AA

Ácido Docosapentaenóico – DPA

Ácido Docosahexaenóico – DHA

Ácido Eicosapentaenóico – EPA

Ácido Graxo Poliinsaturado - AGPI

Ácido Graxo Essencial - AGE

Catalase - CAT

Ciclooxigenase - COX

Citocromo Oxidase – CYP

Discinesia Orofacial - DO

Discinesia Tardia – DT

Dopamina - DA

Espécies Reativas do Oxigênio - EROs

Estresse Oxidativo - EO

Lipooxigenases- LOX

Movimentos de Mascar no Vazio- MMV

Neuroprotectina D1 - NPD1

Omega 3 - n-3

Omega 6 - n-6

Óxido Nítrico - NO

Radicais Livres – RL

Sistema Nervoso Central - SNC

Superóxido Dismutase – SOD

TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

VACHT – Transportador vesicular da acetilcolina

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
APRESENTAÇÃO.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Ômega 3, um ácido graxo essencial: funções e doenças associadas à sua carência.	13
1.2. Estresse Oxidativo (EO) e o sistema de defesa antioxidante.....	14
1.3. Psicoses, tratamento neuroléptico e efeitos extrapiramidais: discinesia tardia.....	15
1.4. Modelos animais de efeitos extrapiramidais.....	17
1.5. Deficiências de memória/cognição associados ao tratamento neuroléptico.....	17
1.6. Possível benefício neuroprotetor do ômega 3: efeitos extrapiramidais e disfunção cognitiva associados ao tratamento neuroléptico.....	18
2. JUSTIFICATIVA.....	22
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Objetivo Geral.....	22
3.2. Objetivos Específicos.....	23
4. MANUSCRITO.....	24
5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

APRESENTAÇÃO

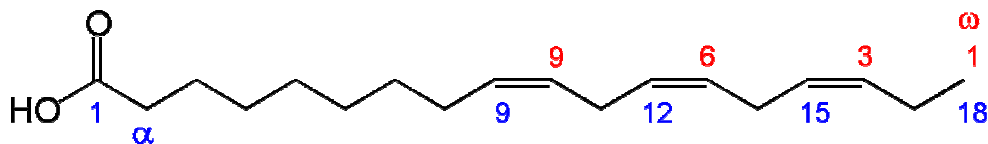
No item INTRODUÇÃO está descrita uma revisão bibliográfica sobre o tema trabalhado nesta dissertação. As seções RESULTADOS, MATERIAL E MÉTODOS, DISCUSSÃO e REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS encontram-se no próprio artigo e representam a íntegra deste estudo.

O item DISCUSSÃO E CONCLUSÕES FINAIS apresentam interpretações e comentários gerais sobre o artigo científico contido neste trabalho, seguido das referências bibliográficas presentes neste item e na introdução.

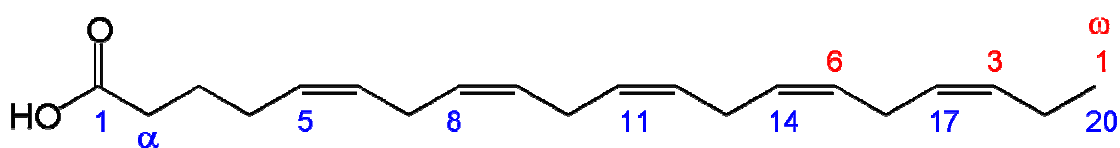
1- INTRODUÇÃO:

1.1 Ômega 3, um ácido graxo essencial: funções e doenças associadas à sua carência.

O ômega 3 é formado por ácidos graxos essenciais poliinsaturados, entre estes, os ácidos alfa-linolênico (18:3 n-3), eicosapentaenóico (EPA) (20:5 n-3) e docosahexaenóico (DHA) (22:6 n-3) (figura 1) (MANTZIORIS *et al.*, 2000). O ácido linolênico não é produzido pelo organismo de mamíferos, o que requer sua ingestão a partir da dieta. Cerca de 5% deste ácido graxo pode ser convertido em EPA e DHA (SARSILMAZ *et al.*, 2003a, b), mas também podem vir através dos alimentos (BURR, 2000). Dentre os alimentos que constituem as principais fontes de ômega 3 figuram a carne de peixes marinhos (sardinha, salmão), óleos e produtos derivados de pescados, nozes e óleos vegetais (oliva, canola e linhaça) (WAINWRIGHT, 1992; SOCCOL *et al.*, 2003). Foi demonstrado que os níveis teciduais de EPA são aumentados com a maior ingestão de alimentos ricos em ácido linolênico, entretanto os níveis de DHA não são alterados (MANTZIORIS *et al.*, 2000). Neste sentido, tem sido recomendada a suplementação de DHA na forma de subprodutos de peixes, já que o mesmo está presente na estrutura fosfolipídica das membranas celulares cerebrais, e é essencial para a integridade das funções neuronais (WAINWRIGHT, 1992; AHMAD *et al.*, 2002a). Os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) apresentam ampla distribuição nos tecidos neuronais, sendo que o DHA participa de cerca de 15 a 20% do total de ácidos graxos do córtex cerebral (NORDOY, 1991), e entre 12 e 16% da substância cinzenta (SALEM *et al.*, 1989; JULIEN *et al.*, 2006).



Ácido alfa-linolênico (ALA) (18:3 n-3)



Ácido eicosapentaenóico (EPA) (20:5 n-3)

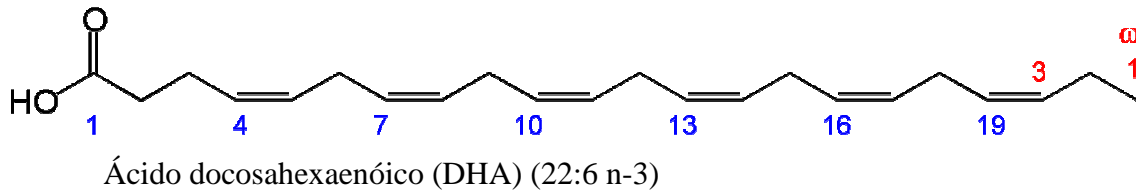


Figura 1. Ácidos Graxos Essenciais Poliinsaturados Ômega 3 (n-3)

Diferentes funções cerebrais têm sido relacionadas à presença de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) na membrana fosfolipídica celular, especialmente as modificações da membrana, entre estas, a fluidez, a atividade de enzimas, o número e afinidade de receptores, função de canais iônicos, atividade de neurotransmissores, transdução de sinais e fatores de crescimento neuronal (YEHUDA *et al.*, 2005). Com todas estas funções, a deficiência de ômega 3 foi relacionada a diferentes distúrbios, incluindo distúrbios dermatológicos, do sistema imune, fadiga, desordem gastrointestinal e cardiovascular, retardo do crescimento e esterilidade (YEHUDA *et al.*, 1987; 2005). Além destes, deficiências de AGPI parecem estar implicadas no desenvolvimento ou agravamento da artrite reumatóide, asma, câncer de mama e de próstata. De particular importância para as funções do sistema nervoso central (SNC), a carência de ômega 3 também foi associada à depressão, distúrbios de hiperatividade (YEHUDA *et al.*, 1987), processo de envelhecimento (BOURRE, 2004), doença de Huntington (CLIFFORD *et al.*, 2002) e à própria esquizofrenia (DAS, 2004).

1.2 Estresse Oxidativo (EO) e o sistema de defesa antioxidante

As espécies reativas de oxigênio (EROs) estão envolvidas em patologias da membrana celular neuronal e exercem um importante papel nas distúrbios neurológicas e neuropsiquiátricas (LOHR, 1991; HALLIWELL, 1993; IRMAK *et al.*, 2003; SARSILMAZ *et al.*, 2003a).

Radicais livres (RL) são espécies químicas altamente reativas que contêm um ou mais elétrons não-pareados em sua órbita de valência (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999). São produzidos naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos e, muitas vezes, de extrema utilidade em situações em que há necessidade de ativação do

sistema imune; na desintoxicação de drogas; e na produção de óxido nítrico (NO) (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004).

Normalmente as células apresentam mecanismos de defesa contra os danos produzidos pelos RL. Os problemas ocorrem quando a produção excede a capacidade natural antioxidante, causando um desequilíbrio denominado estresse oxidativo (EO) (EBADI *et al.*, 1996; JENNER e OLNAW, 1996). Dependendo da extensão, o EO pode levar à morte celular através de mecanismos apoptóticos, pois as EROs oxidam componentes celulares vitais como lipídios de membrana, proteínas e DNA (SIMONIAN & COYLE, 1996).

Devido ao aumento da exposição ambiental aos agentes pró-oxidantes, nossas defesas antioxidantes podem não ser completamente efetivas. Deste modo, torna-se importante a busca de novos antioxidantes que possam atuar como agentes profiláticos e/ou terapêuticos, já que o EO tem sido relacionado com a patogênese de diferentes doenças neurológicas e neurodegenerativas (revisado por GILGUN-SHERKI *et al.*, 2001).

Recentemente, algumas doenças degenerativas têm sido associadas com a geração de RL, entre estas podem ser citadas, Alzheimer (MARKESBERY, 1997), disfunção cognitiva da velhice (GOODWIN *et al.*, 1983; PERRY *et al.*, 1997), síndrome de Parkinson (FAHN e COHEN, 1992), doença de Huntington (BEAL, 1996), esclerose lateral amiotrófica (COYLE e PUTFARCKEN, 1993), esquizofrenia (COYLE e PUTFARCKEN, 1993) e discinesia tardia (TSAI *et al.*, 1998), entre outras.

1.3 Psicoses, tratamento neuroléptico e efeitos extrapiramidais: discinesia tardia (DT)

Deficiência de ômega 3 reduz o número das vesículas de dopamina no córtex e causa malformação da via mesocortical-mesolímbica (YEHUDA *et al.*, 2005), prejudicando a função normal do sistema dopaminérgico, que está envolvido em situações psicóticas. Foi sugerido que a suplementação de ômega 3 durante o desenvolvimento perinatal poderia prevenir o desenvolvimento de esquizofrenia em adultos (DAS, 2004). Neste sentido, existem evidências dos benefícios de ácidos graxos essenciais (EFA), particularmente o ômega 3, suplementado ao tratamento antipsicótico. Esta orientação baseia-se na possibilidade de que estes ácidos graxos exercem efeitos terapêuticos sobre os distúrbios do metabolismo

fosfolipídico de membranas neuronais em portadores de doenças psiquiátricas (SONGUR *et al.*, 2004).

Anormalidades de ácidos graxos essenciais no cérebro também interferem com a função fisiológica dos receptores dopaminérgicos, produzindo anormalidades nos movimentos e em outras funções mentais (VADDADI *et al.*, 1996), especialmente importante no núcleo caudato (DAVIDSON, 1988), região envolvida nos distúrbios do movimento. Estas alterações motoras são particularmente comuns em pacientes psiquiátricos tratados com medicamentos neurolépticos clássicos, cujo uso crônico relaciona-se a efeitos extrapiramidais, que se manifestam através de tremores, acatisia, distonias motoras e DT.

A DT é uma síndrome que se desenvolve após uso prolongado de neurolépticos clássicos e caracteriza-se por movimentos involuntários, repetitivos e hiperkinéticos da região orofacial (JESTE & WYATT, 1982; KANE & LIEBERMAN, 1992 ou 1993), pescoço e tronco, podendo ser incapacitante e irreversível. A prevalência da DT é de cerca de 20 a 25% da população psiquiátrica que usa antipsicóticos, porém este índice pode ser de 50% com o aumento da idade (ANDREASSEN & JORGENSEN, 2000). A DT apresenta uma incidência anual de novos casos de, aproximadamente, 3 a 5% e parece ocorrer de maneira irreversível, freqüentemente cumulativa e incapacitante (KANE, 1995).

O mais recente surgimento dos neurolépticos atípicos trouxe avanços em relação ao desenvolvimento de sintomas extrapiramidais, porém seu uso ainda é restrito, pois se relaciona ao aumento do peso corporal, desenvolvimento de diabetes e sérios riscos de discrasias sanguíneas potencialmente fatais (MELTZER, 1995), o que requer monitoramento intensivo, além do custo elevado.

Como a DT é a manifestação mais grave dos sintomas extrapiramidais induzidos por neurolépticos típicos, algumas hipóteses foram sugeridas para explicar a condição. Dentre essas, a supersensibilidade dopaminérgica, considerada inicialmente por Klawans *et al.* (1970), relaciona o aumento do número e sensibilidade de receptores dopaminérgicos ao desenvolvimento da síndrome, em resposta ao bloqueio prolongado dos receptores das membranas neuronais motoras. Embora a supersensibilidade realmente ocorra, existem algumas contradições, sugerindo outras idéias relacionadas ao desenvolvimento de DT. Mais tarde, Fibiger e Lloyd (1984) sugeriram um dano neuronal gabaérgico, em regiões cerebrais como os núcleos da base, para o desenvolvimento de DT. A seguir, Cadet e Lohr (1989) também consideraram a ocorrência de um processo neurotóxico para explicar a irreversibilidade da síndrome em indivíduos tratados com antipsicóticos, propondo um mecanismo relacionado aos RL e ao estresse oxidativo. Esta linha de pensamento é conhecida

como hipótese da degeneração neuronal para a DT (ELKASHEF e WYATT, 1999; SACHDEV *et al.*, 1999), a qual tem sido amplamente aceita, pois o bloqueio dopaminérgico pode causar uma elevação secundária na liberação e degradação da DA, fatores que reconhecidamente elevam a geração de RL e a conseqüente neurodegeneração, compatível com as observações clínicas da DT (LOHR e JESTE, 1988; CADET e LOHR, 1989; LOHR *et al.*, 1990; BROWN *et al.*, 1998; HENSLEY e FLOYD, 2002).

1.4 Modelos animais de efeitos extrapiramidais

O estudo dos efeitos extrapiramidais induzidos por drogas neurolépticas tem sido bem descrito na literatura (MOORE *et al.*, 1992; MILLAN *et al.*, 1997; ROCHA *et al.*, 1997; ANANTH *et al.*, 2004; TADA *et al.*, 2004; YEN *et al.*, 2004; GMIRO e SERDYUK, 2007; RASMUSSEN *et al.*, 2007). Estes modelos animais baseiam-se no aumento da atividade muscarínica estriatal, decorrente da hipofunção ou bloqueio exercido pelo antipsicótico nos receptores dopaminérgicos D₂, principalmente, observados através de catalepsia, redução da atividade motora, parkinsonismo e discinesia. A DT também tem sido estudada através de modelos animais de discinesia orofacial induzida por neurolépticos em roedores, observada através do desenvolvimento de movimentos vazios de mascar, protrusão da língua e tremores faciais (KANEDA *et al.*, 1992; IKEDA *et al.*, 1999; ANDREASSEN & JORGENSEN, 2000; NAIDU *et al.*, 2003; ABILIO *et al.*, 2003^a; b; BURGER *et al.*, 2005a, b; 2006; 2007; FACHINETTO *et al.*, 2005; 2007).

1.5 Deficiências de memória/cognição associados ao tratamento neuroléptico

A deficiência cognitiva pode resultar de danos da função hipocampal. A aquisição, consolidação e retenção da memória são processos importantes para o aprendizado humano, e exigem que a função do hipocampo (McNAMARA e SKELTON, 1993; McDONALD e WHITE, 1995) e do córtex (PILLAI *et al.*, 2006) mantenham-se intactas.

Pacientes esquizofrênicos demonstraram deficiências cognitivas, relacionadas a uma redução dos receptores nicotínicos, independentemente do uso de neurolépticos (DURANY *et*

al., 2000; TREEDMAN, 2000). Neste sentido, os prejuízos de memória e aprendizagem na esquizofrenia são generalizados e graves (TOLEFSON, 1996), prejudicando funções e atividades diárias. O uso de drogas antipsicóticas atua benéficamente na redução de sintomas como alucinações e delírios, entretanto não revertem os prejuízos cognitivos associados à própria doença, podendo ainda exacerbar esta disfunção. O uso crônico de neurolépticos típicos como o haloperidol tem sido associado a estas perdas cognitivas, demonstradas experimentalmente (ELISSON *et al.*, 1988; McGURK *et al.*, 1988; SKARFELDT, 1996; LEVIN *et al.*, 1987, 1997; LEVIN *et al.*, 2002). São necessários estudos de novos compostos que possam aliviar ou prevenir as perdas cognitivas associadas à doença mental e ao uso de antipsicóticos típicos.

1.6 Possível benefício neuroprotetor do ômega 3: efeitos extrapiramidais e disfunção cognitiva associados ao tratamento neuroléptico

Em busca de novas potenciais terapêuticas e/ou profiláticas para o tratamento de doenças neurodegenerativas, o ômega 3 pode exercer um papel de agente antioxidante e neuroprotetor (SARSILMAZ *et al.*, 2003a). Estudos com animais de laboratório demonstraram que o DHA e EPA são antioxidantes nutricionais e reduzem a formação de peróxidos de lipídeos no cérebro (HOSSAIN *et al.*, 1999; CHOI-KWON *et al.*, 2004) e no fígado de ratos (YILMAZ *et al.*, 2004). A atividade neuroprotetora do DHA também foi evidenciada através das propriedades antioxidantes *in vivo* (HASHIMOTO *et al.*, 2002; YAVIN *et al.*, 2002; CALON *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2004; BAZAN, 2005), através do aumento da atividade da glutatona redutase (HASHIMOTO, 2002), diminuição da oxidação de proteínas (CALON *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2004) e dos níveis de peróxidos de lipídios e EROs (HASHIMOTO *et al.*, 2002; 2006).

A obtenção de ômega 3 a partir da dieta pode agir no parâmetro oxidante/antioxidante em regiões críticas cerebrais como hipocampo (SARSILMAZ *et al.*, 2003a), corpo estriado (SARSILMAZ *et al.*, 2003b) e hipotálamo (SONGUR *et al.*, 2004), sugerindo proteção em distúrbios neurológicos e neuropsiquiátricos (BLACK *et al.*, 1979; 1984).

O mecanismo proposto para os benefícios dos AGPI n-3 parece estar relacionado à incorporação destes ácidos graxos nas membranas celulares (CLANDININ *et al.*, 1994), promovendo mudanças na sua fluidez e função, bem como alterações na expressão gênica e

produção de eicosanóides (RIEDIGER *et al.*, 2009). O aumento do conteúdo de ácidos graxos n-3 na dieta causa a substituição parcial dos ácidos graxos da série Omega 6 (n-6), especificamente o ácido araquidônico (AA), das membranas fosfolipídicas (MICKLEBOROUGH *et al.*, 2003), pelos AGPI n-3 EPA e DHA. Tanto os fosfolipídios do AA quanto do EPA e DHA podem ser liberados da membrana celular pela ação da enzima fosfolipase A₂ e metabolizados por duas diferentes vias (MASSARO *et al.*, 2008).

A primeira delas envolve reações catalisadas pelas enzimas COX e lipooxigenases (LOX) que levam a formação PG, tromboxanos (TX) e leucotrienos (LT), mediadores de um amplo espectro de atividades biológicas (MASSARO *et al.*, 2008). O AA é precursor de prostanóides da série-2, incluindo prostaciclina (PGI₂), TXA₂ e PGE₂, que apresenta diversos efeitos pró-inflamatórios (indução de febre, eritema, aumento da permeabilidade vascular e vasodilatação), enquanto o EPA é precursor de prostanóides da série-3 (PGI₃ e TXA₃). Os ácidos graxos n-3 são OS piores substratos para as enzimas metabolizadoras, levando à diminuição da produção de eicosanóides (MASSARO *et al.*, 2008) Além disso, os eicosanóides formados são biologicamente menos ativos, as PG e os LT têm menores propriedades inflamatórias (CALDER, 2001; BORTOLOTTI *et al.*, 2007), e TXA₃ tem mínima atividade vasoconstritora e agregante plaquetária (MASSARO *et al.*, 2008).

A segunda via de metabolização, conforme revisado por SERHAN e CHIANG, 2008, leva a formação de compostos denominados resolvinas (derivadas do EPA e do DHA) e protectinas (derivadas somente do DHA). Esses novos mediadores são potentes agonistas endógenos que estimulam a resolução da inflamação, controlando-a. O EPA, pela ação das enzimas COX-2 acetilada e 5-LOX forma resolvinas da série-E e o DHA, resolvinas da série-D (SERHAN e CHIANG, 2008). Também pela ação da LOX, o DHA endógeno pode ser convertido à protectina D₁ (PD₁) ou à neuroprotectina D₁ (NPD₁). Foi demonstrado que a NPD₁ é formada nas células da retina em resposta ao estresse oxidativo em modelos experimentais de isquemia-reperfusão cerebral, no cérebro de pacientes com doença de Alzheimer e em cultura de células cerebrais. A este mediador é atribuída potente atividade antiinflamatória e neuroprotetora (BAZAN, 2007).

As propriedades pró-inflamatórias reduzidas dos ácidos graxos n-3 já estão bem estabelecidas (MORI e BEILIN, 2004), e uma possível ação antioxidante tem sido proposta principalmente em relação ao DHA que pode interferir com a produção de EROs (MASSARO *et al.*, 2008).

Neste sentido, diferentes procedimentos têm sido testados na prevenção e/ou tratamento de distúrbios neurológicos como os sintomas extrapiramidais consequentes ao uso

crônico de neurolépticos típicos. Dentre esses, a redução da dose do neuroléptico (SOARES-WEISER e JOY, 2005), a atividade física regular (TEIXEIRA *et al.*, 2008) e a inclusão de compostos antioxidantes (ANDREASSEN e JORGENSEN, 1994; ELKASHEF e WYATT, 1999; SACHDEV *et al.*, 1999; ABILIO *et al.*, 2002, 2003^a; b; BÜRGER *et al.*, 2003; 2005b; NAIDU *et al.*, 2003; COLPO *et al.*, 2007), têm sido fortemente considerados. Tais medidas preventivas e tratamentos têm contribuído para a compreensão da fisiopatologia da DT, mas ainda não são suficientes para prevenir ou curar definitivamente a síndrome (NAJIB, 1999). Na busca de alívio para os distúrbios motores decorrentes do tratamento crônico com neurolépticos típicos, Éthier *et al.* (2004) demonstraram que o DHA, um AGPI natural, é capaz de reduzir discinesia orofacial induzidas por haloperidol em animais. De forma semelhante, formulações de AGPIs demonstraram proteção dopaminérgica estriatal (YEHUDA *et al.*, 1980), que está diretamente relacionada ao desenvolvimento de doenças do movimento. Outro estudo mostrou que o DHA foi capaz de reduzir 40% dos sintomas discinéticos associados ao parkinsonismo em primatas (SAMADI *et al.*, 2006). Na clínica humana, diferentes estudos com suplementação de ômega 3 a pacientes psiquiátricos com DT mostraram efeitos antidiscinéticos (VADDADI *et al.*, 1989), além da observação de uma correlação inversa entre ingestão do ácido graxo e a severidade da condição (PEET *et al.*, 1996). Um estudo mais recente com portadores de esquizofrenia refratária ao tratamento neuroléptico mostrou benefícios do ômega 3 (3g/dia) na redução de sintomas da DT (EMSLEY *et al.*, 2002). Posteriormente, o mesmo delineamento experimental foi realizado com uma dose reduzida de ômega 3 (2g/dia), sem observação de melhora clínica nos sintomas de DT, mas com uma tendência de melhora (EMSLEY *et al.*, 2003).

Juntos, estes dados experimentais e clínicos demonstram que os sintomas motores extrapiramidais associados ao uso crônico de antipsicóticos típicos, especialmente a DT, ainda carecem de compostos terapêuticamente aplicáveis para sua prevenção ou alívio.

A carência de EFA e sua conseqüente redução cerebral não são uniformes, afetando especialmente as áreas envolvidas no aprendizado e memória (BOURRE, 2004). Considerando a região do hipocampo, foi observado que o tamanho reduzido das células piramidais está especialmente associado à deficiência de DHA (AHMAD *et al.*, 2002b). Esta região apresenta um papel fundamental na vida emocional, principalmente na memória de curto prazo, importante para a função normal do cérebro. Desta forma, a perda de DHA cerebral resulta na extensiva perda funcional, sensorial, comportamental e cognitiva em animais e humanos (YEHUDA, 1993; CARLSON *et al.*, 1993; PAWLOSKY *et al.*, 1997;

WAINWRIGHT *et al.*, 1998; GAMOH *et al.*, 1999; GREINER *et al.*, 2001; AHMAD *et al.*, 2002a;), particularmente importante no processo de envelhecimento (BOURRE, 2004).

Estudos experimentais de memória espacial (CALON *et al.*, 2004; 2005) e função cognitiva em modelos animais de Alzheimer (HASHIMOTO *et al.*, 2002, 2005, 2006) já demonstraram efeitos benéficos do DHA, orientando para o uso de ômega 3 como uma defesa nutracêutica nos distúrbios cerebrais, de fácil acesso e baixa toxicidade (CALON e COLE, 2007).

Foi sugerido que desordens neurodegenerativas apresentam uma relação direta com a desregulação do metabolismo dos fosfolípidios, associado ao déficit de EFA na membrana, ficando a mesma suscetível à destruição (HORROBIN *et al.*, 1991; YAO, 2000). Neste sentido, o ômega 3 pode promover efeitos protetores nas membranas lipídicas celulares de regiões cerebrais envolvidas na memória e cognição.

2- JUSTIFICATIVA

O uso de neurolépticos típicos está associado a problemas de memória e cognição, assim como ao desenvolvimento de distúrbios motores como tremores, acatisia e DT. Ambos, haloperidol e flufenazina são neurolépticos amplamente empregados no controle das doenças mentais, e também associados aos efeitos adversos característicos deste grupo terapêutico.

Sendo o ômega 3 uma substância de ocorrência natural envolvida na integridade das membranas neuronais, demonstrado através de experimentação animal e na clínica humana, torna-se fundamental o estudo dos possíveis efeitos protetores e/ou preventivos destes ácidos graxos essenciais sobre os distúrbios do movimento e de memória associados ao tratamento neuroléptico em modelos animais.

3- OBJETIVOS:

3.1- Objetivo geral:

Considerando o envolvimento do EO e dos AGPIs no desenvolvimento de patologias neurodegenerativas, este estudo propõe avaliar os efeitos da administração do óleo de peixe, rico em ômega 3, sobre a função de memória de ratos tratados com neurolépticos típicos (haloperidol e flufenazina), bem como o potencial preventivo do ômega 3 na redução dos movimentos orofaciais associados ao desenvolvimento de discinesia orofacial (DO) e da catalepsia induzidos pelos referidos neurolépticos. Paralelamente às observações motoras e comportamentais, também foram desenvolvidos ensaios bioquímicos de marcador de estresse oxidativo em tecido sanguíneo e alguns tecidos cerebrais, do SNC envolvidos nas funções motoras e de memória.

3.2- Objetivos específicos:

- Avaliar o desenvolvimento de discinesia orofacial nos animais designados nos dois protocolos experimentais, e a possível ação protetora do ômega 3, através da observação da frequência de movimentos de mascar no vazio (MMV);
- Avaliar o desenvolvimento de catalepsia nos animais submetidos aos experimentos 1 e 2 e a possível ação protetora do ômega 3;
- Avaliar o possível benefício do ômega 3 sobre a função de memória (memória espacial) nos animais tratados com haloperidol ou flufenazina, através de “water-maze”, ou paradigma de labirinto aquático;
- Avaliar a peroxidação lipídica no plasma e em algumas regiões cerebrais envolvidas nos processos de aquisição de memória (hipocampo) e controle motor (região da substância negra) , através da determinação de peroxidação.

Artigo

Effects of ω -3 essential fatty acids (ω -3 EFAs) on motor disorders and memory dysfunction typical neuroleptic-induced: behavioral and biochemical parameter.
Raquel Cristine Silva Barcelos^a, Dalila Moter Benvegnú^a, Nardeli Boufleur^b,
Patrícia Reckziegel^b, Liz Girardi Müller^b, Camila Pase^b, Tatiana Emanuelli^c,
Marilise Escobar Bürger^a

^a Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil.

^b Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil.

^c Departamento de ciência e Tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil.

*Corresponding author:

Prof. Dr^a. Marilise Escobar Bürger

Departamento de Fisiologia e Farmacologia, CCS, Universidade Federal de Santa Maria,
97105-900 Santa Maria, RS, BRAZIL

Phone/FAX:+055-55 3220 7686, e-mail: mariliseeb@yahoo.com.br

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES FINAIS

Nesta dissertação tivemos por objetivo avaliar os possíveis efeitos do ômega 3 na prevenção de prejuízos de memória e distúrbios motores induzidos por neuroléptico típicos, especialmente o haloperidol e a flufenazina. Novos compostos têm sido propostos experimentalmente em busca de alívio para os sintomas motores e para os prejuízos de memória, associados ao tratamento antipsicótico na clínica humana, além de contribuir para uma maior compreensão da fisiopatologia da DT, como também de outras doenças degenerativas associadas às funções da membrana celular e seus processos apoptóticos (ABILIO *et al.*, 2003; BÜRGER *et al.*, 2003, 2005; FARIA *et al.*, 2005). O haloperidol e a flufenazina, como indutores de DO em animais e modelos experimentais de DT, são capazes de desenvolver EO através de múltiplos mecanismos, resultando na elevação da formação de metabólitos associados à geração de radicais livres e, conseqüentemente, aos processos oxidativos e de apoptose (SUSSMAN *et al.*, 1997; PARIS *et al.*, 2001; DUTRA *et al.*, 2002; BILSKA e DUBIEL, 2007).

O ômega 3 tem ocupado um lugar importante nas pesquisas que buscam reduzir o risco de diferentes distúrbios (YEHUDA *et al.* 1987), incluindo a depressão, desordens de hiperatividade (YEHUDA *et al.*, 1987), processos de envelhecimento (BOURRE, 2004), doença de Huntington (CLIFFORD *et al.*, 2002), esquizofrenia (DAS, 2004), entre outros. Além disto, a suplementação com ômega 3 mostrou melhora da memória espacial (CALON *et al.*, 2004, 2005) e cognitiva em modelos animais de Alzheimer (HASHIMOTO *et al.*, 2002, 2005, 2006). Vários laboratórios já demonstraram efeitos benéficos do DHA, orientando para o uso de ômega 3 como uma defesa nutracêutica nos distúrbios cerebrais, de fácil acesso e baixa toxicidade (CALON e COLE, 2007).

Os resultados obtidos nos experimentos explicitados nesta dissertação demonstram que a administração de neurolépticos típicos (haloperidol e flufenazina) foi capaz de aumentar a frequência dos movimentos orofaciais dos animais durante as quatro observações semanais. O co-tratamento do haloperidol com o óleo de peixe reduziu a frequência desses movimentos em todos os tempos avaliados, ao passo que o co-tratamento da flufenazina com o óleo de peixe mostrou uma redução desses movimentos a partir da terceira semana avaliada. No momento não é possível explicar esta diferença temporal entre os dois paradigmas experimentais, mas é possível que a flufenazina apresente uma maior biodisponibilidade em

relação ao haloperidol, já que clinicamente, a dose deste antipsicótico é um pouco menor que a dose do haloperidol, em média. Entretanto, em ambos os experimentos foi possível observar os benefícios do óleo de peixe, orientando para a continuidade dos estudos. Ainda considerando os distúrbios motores induzidos pelos neurolépticos típicos, a catalepsia foi outra alteração motora observada em nossos experimentos, e a ingestão do óleo de peixe foi capaz de reduzir o tempo da mesma. Semelhantemente às observações de discinesia orofacial, o tempo de catalepsia induzido pelo haloperidol foi revertido pela suplementação de óleo de peixe a partir da 3ª semana de observação, enquanto o mesmo efeito da flufenazina só foi revertido na última semana. Esta variação merece maiores estudos, e conduzem para diferenças farmacocinéticas entre os dois neurolépticos aqui empregados.

No paradigma que focou o estudo da memória, o tratamento neuroléptico confirmou os efeitos deletérios já observados por outros autores, após 28 dias de tratamento com haloperidol, e com flufenazina. Estes efeitos deletérios foram completamente revertidos pelo ômega-3 suplementados através do óleo de peixe.

Ainda, observou-se que a administração de haloperidol foi capaz de elevar a lipoperoxidação no hipocampo e no plasma, evidenciado pelo aumento do TBARS. Em ambos os tecidos, este efeito foi completamente revertido pelo co-tratamento com óleo de peixe. O tratamento com flufenazina também mostrou elevação da peroxidação lipídica no plasma e na região da substância negra, revertido pelo co-tratamento com óleo de peixe.

Analisados em conjunto, os resultados demonstrados aqui fortalecem a relação entre EO e a neurodegeneração, e confirmam o uso de neurolépticos típicos como um modelo experimental de EO cerebral e plasmático. Portanto, os resultados obtidos com esta pesquisa orientam que a suplementação com óleo de peixe, associada ao tratamento farmacológico, pode servir como uma terapia preventiva, retardando ou prevenindo os efeitos adversos motores e de prejuízo de memória associados à terapia neuroléptica clássica.

Estudos futuros deverão ser desenvolvidos com o objetivo de avaliar os efeitos protetores do óleo de peixe sobre diferentes tipos de memória, em outros modelos animais, bem como outras patologias associadas aos distúrbios do movimento, cuja fisiopatologia envolva mecanismo neurodegenerativos e apoptóticos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABILIO, V. C. et al. Effects of melatonin on behavioral dopaminergic supersensitivity. **Life Sciences**, v. 72, p. 3003-3015, 2003b.

ABILIO, V. C. et al. Vitamin E attenuates reserpine-induced oral dyskinesia and striatal oxidized glutathione/reduced glutathione ratio (GSSG/GSH) enhancement in rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 27, n. 1, p.109-114, 2003a.

ABILIO, V. C. et al. Effects of melatonin on orofacial movements in rats. **Psychopharmacology**, v. 161, p. 340-47, 2002.

AHMAD, A.; MORIGUCHI, T.; SALEM, N. Decrease in neuron size in docosahexaenóico acid-deficient brain. **Pediatr Neurol**, v. 26, p. 210-218, 2002a.

AHMAD, A. et al. A decrease in cell size accompanies a loss of docosahexaenoate in the rat hippocampus. **Nutr Neurosci**, v. 5, p. 103-113, 2002b.

ANANTH, J.; PARAMESWARAN, S.; HARA, B. Drug Therapy in Schizophrenia. **Curr Pharm Des**, v. 10, n. 18, p. 2205-2217, 2004.

ANDREASSEN, A. O.; JORGENSEN, H. A. Neurotoxicity associated with neuroleptic-induced oral dyskinesias in rats. Implications for tardive dyskinesia? **Prog Neurobiol**, v. 61, p. 525-541, 2000.

ANDREASSEN, A. O.; JORGENSEN, H. A. GM1 ganglioside attenuates the development of vacuous chewing movements induced by long-term haloperidol treatment of rats. **Psychopharmacology**, v. 116, p. 517-522, 1994.

BAZAN, N.G. Omega-3 fatty acids, pro-inflammatory signaling and neuroprotection. **Clin Nutr Metab Care**, v. 10, p. 136-141, 2007.

BAZAN N. G. Neuroprotectin D1 (NPD1): a DHA-derived mediator that protects brain and retina against cell injury-induced oxidative stress. **Brain Pathology**, v. 15, n. 2, p. 159-266, 2005.

BILSKA, A., DUBIEL, M. Alpha-lipoic acid differently affects the reserpine-induced oxidative stress in the striatum and liver. *Acta Physiol Scand*, v. 169: 343-351, 2000.

BLACK, K. L. et al. Eicosapentaenoic acid: effect on brain prostaglandins, cerebral blood flow and edema in ischemic gerbils. **Stroke**, v. 15, p. 65-69, 1984.

BLACK, K. L. et al. The protective effects of dietary fish oil on focal cerebral infarction. **Prostaglandins Med**, v. 3, p. 257-568, 1979.

BORTOLOTTI, M.; TAPPY, L.; SCHNEITER, P. Fish oil supplementation does not alter energy efficiency in healthy males. **Clin Nutr**, v. 26, p. 225-30, 2007.

BOURRE, J. M. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during aging. **J Nutr Health Aging**, v. 8, p. 163-74, 2004.

BROWN, K. et al. Vitamin E, lipids, and lipid peroxidation products in tardive dyskinesia. **Biol Psychiatry**, v. 43, p. 863-867, 1998.

BÜRGER, M. E. et al. *Ilex paraguariensis* has antioxidant potential and attenuates haloperidol-induced orofacial dyskinesia and memory dysfunction in rats. **Neurotox Res**, v. 12, n. 3, p. 1-10, 2007.

BÜRGER, M. E. et al. Effects of diphenyl-diselenide on orofacial dyskinesia model in rats. **Brain Res Bul**, v. 70, n. 2, p. 165-170, 2006.

BÜRGER, M. E. et al. Acute reserpine and subchronic haloperidol treatments change synaptosomal brain glutamate uptake and elicit orofacial dyskinesia in rats. **Brain Res**, v. 1031, p. 202-210, 2005a.

BÜRGER, M. E. et al. Ebselen attenuates haloperidol-induced orofacial dyskinesia and oxidative stress in rat brain. **Pharmacol, Biochem Behav**, v. 81, p. 608-615, 2005b.

BURR, M. L. Lessons from the story of n-3 fatty acids. **Am J Clin Nutr Jan**, v. 71, n. 1, p. 397S-8S, 2000.

CADET, J. L.; LOHR, J. B. Possible involvement of free radicals in neuroleptic-induced movement disorders: evidence from treatment of tardive dyskinesia with vitamin E. **Ann NY Acad Sci**, v. 570, p. 176-85, 1989.

CALDER, P.C. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. **World Rev Nutr Diet**, v. 88:109-16, 2001.

CALON, F.; COLE, G. Neuroprotective action of omega-3 polyunsaturated fatty acids against neurodegenerative diseases: Evidence from animal studies. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 77, p. 287-293, 2007.

CALON, F. et al. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid depletion activates caspases and decreases NMDA receptors in the brain of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. **Eur J Neurosci**, v. 22, p. 617-626, 2005.

CALON, F. et al. Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. **Neuron**, v. 43, p. 633-645, 2004.

CARLSON, S. E. et al. Visual acuity development in healthy preterm infants: effect of marine-oil supplementation. **Am J Clin Nutr**, v. 58, p. 35-42, 1993.

CHOIN-KWON, S. et al. Temporal changes in cerebral antioxidant enzyme activities ischemia and reperfusion in a rat focal brain ischemia model: effect of dietary fish oil. **Dev Brain Res**, v. 152, n. 1, p. 11-18, 2004.

CLANDININ MT, JUMPSSEN J, SUH M (1994) Relationship between fatty acid accretion, membrane composition, and biologic functions. *J Pediatr* 125 (suppl): S25-S32.

CLIFFORD, J. J. et al. Essential fatty acids given from conception prevent topographies of motor deficits in a transgenic model of Huntington's disease. **Neuroscience**, v. 109, p. 81-8, 2002.

COLPO, G. et al. *Ilex paraguariensis* has antioxidant and attenuates haloperidol-induced orofacial dyskinesia and memory dysfunction in rats. **Neurotox Res**, v. 12, n. 3, p. 1-10, 2007

COYLE, J. T.; PUTFAECKEN, P. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. **Science**, v. 262, p.689-695, 1993.

DAS, U. N. Can perinatal supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids prevent schizophrenia in adult life? **Med Sci Monit**, v. 10, p. 33-7, 2004.

DAVIDSON, R. J. EEG measures of cerebral asymmetry: conceptual and methodological issues. **Int J Neurosci**, v. 39, p. 71-89, 1988.

DURANY, N. et al. Human post-mortem striatal alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor density in schizophrenia and Parkinson's syndrome. **Neurosci Lett**, v. 287, n. 2, p. 109-12, 2000.

DUTRA, R. C. et al. Behavioral effects of MK-801 on reserpine-treated mice. **Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat**, v. 26, p. 487-495, 2002.

EBADI, M.; SRINIVASAN, S. K.; BAXI, M. D. Oxidative stress and antioxidant theory in Parkinson's disease. **Prog Neurobiol**, v. 48, p. 1-19, 1996.

ELISSON, G. D. et al. Chronic neuroleptics alter the effects of the D₁ agonist SK&F 38393 and the D₂ agonist LY 171555 on oral movements in rats. **Psychopharmacology**, v. 96, p. 253-7, 1988.

ELKASHEF, A. M.; WYATT, R. J. Tardive dyskinesia: possible involvement of free radicals and treatment with vitamin E. **Schizophr Bull**, v. 25, p. 731-40, 1999.

EMSLEY, D. et al. The effects of eicosapentaenoic acid in tardive dyskinesia: A randomized, placebo-controlled trial. **Schizophr Res**, v. 84, n. 1, p. 112-120, 2003.

EMSLEY, R. et al. Randomized, placebo-controlled study of ethyl-eicosapentaenoic Acid as supplemental treatment in schizophrenia. **Am J Psychiatry**, v. 159, n. 9, p. 1596-8, 2002.

ÉTHIER, I. et al. Docosahexaenoic Acid Reduces Haloperidol-Induced Dyskinesias in Mice: Involvement of *Nur77* and Retinoid Receptors. **Biol Psychiatry**, v. 56, p. 522-526, 2004.

FACHINETTO, R. et al. *Valeriana officinalis* does not alter the orofacial dyskinesia induced by haloperidol in rats: Role of dopamine transporter. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 31, p. 1478-1486, 2007.

FACHINETTO, R. et al. High fat diet increases the incidence of orofacial dyskinesia and oxidative stress in specific brain regions of rats. **Pharmacol, Biochem Behav**, v. 81, p. 585-592, 2005.

FAHN, S.; COHEN, G. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease. Evidence supporting it. **Ann Neurol**, v. 32, p. 804-812, 1992.

FARIA R. R. et al. Beneficial effects of vitamin C and vitamin E on reserpine-induced oral dyskinesia in rats: critical role of striatal catalase activity. *Neuropharmacology*, v. 48, p. 993-1001, 2005.

FIBIGER, H. C.; LLOYD, K. G. Neurobiological substrates of tardive dyskinesia: the GABA hypothesis. *Trends Neurosci*, v. 7, p. 462-464, 1984.

GAMOH, S. et al. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory-related learning ability in young rats. *Neuroscience*, v. 93, p. 237-241, 1999.

GILGUN-SHERKI, Y.; MELAMED, E.; OFFEN, D. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood barrier. *Neuropharmacology*, v. 40, p. 959-975, 2001.

GMIRO, V. E.; SERDYUK, S. E. Epinephrine Potentiates Antipsychotic, but not Cataleptogenic Effect of Haloperidol in Rats. *Bull Exp Biol Med*, v. 143, n. 5, p. 617-619, 2007.

GOODWIN, J. S.; GOODWIN, J. M.; GARRY, P. J. Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population. *JAMA*, v. 249, p. 2917-2921, 1983.

GREINER, R. S. et al. Olfactory discrimination deficits in n-3 fatty acid-deficient rats. *Physiol Behav*, v. 72, p. 379-385, 2001.

HALLIWEL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 3.ed. Oxford: OXFORD UNIVERSITY PRESS, 1999.

HALLIWEL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*, v. 57, n. 5, p. 715S-724S, 1993.

HASHMOTO, M. et al. Docosahexaenoic acid-induced protective effect against impaired learning in amyloid beta-infused rats is associated with increased synaptosomal membrane fluidity. *Clin Exp Pharmacol. Physiol*, v. 33, p. 934-939, 2006.

HASHIMOTO, M.; Chronic administration of docosahexaenoic acid ameliorates the impairment of spatial cognition learning ability in amyloid {beta}-infused rats. *J Nutr*, v. 135, p. 549-555, 2005.

HASHIMOTO, M. et al. Docosahexaenoic acid provides protection from impairment of learning ability in Alzheimer's disease model rats. **J Neurochem**, v. 81, p. 1084-1091, 2002.

HENSLEY, K.; FLOYD, R. A. Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: a look back, a look ahead. **Arch Biochem Biophys**, v. 397, p. 377-83, 2002.

HORROBIN, D. F. et al. Fatty acids levels in brains of schizophrenics and normal controls. **Biol Psychiatry**, v. 30, p. 795-805, 1991.

HOSSAIN, M. S. et al. Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and Brainstem of aged hypercholesterolemic rats. **J Neurochem**, v. 72, n. 3, p. 1133-1138, 1999.

JENNER, P.; OLNAW, C. W. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. **Neurology**, v. 47, p. S161-S176, 1996.

JESTE, D. V.; WYATT, J. Therapeutic strategies against tardive dyskinesia. Two decades of experience. **Arch Gen Psychiatry**, v. 39, n. 7, 1982.

JULIEN, C. et al. Postmortem brain fatty acid profile of levodopa-treated Parkinson disease patients and parkinsonian monkeys. **Neurochem Int**, v. 48, p. 404-414, 2006.

KANE, J. M. Tardive Dyskinesia: epidemiological and clinical presentation. In: BLOOM, F. E.; KUPFER, D. J. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. 4ed. New York, RAVEN PRESS: 485-95, 1995.

KANE, J. M.; LIEBERMAN, J. A. *Adverse effects of psychotropic drugs*. New York: GUILFORD PRESS, 1993.

KANEDA, H. et al. Co-administration of progabide inhibits haloperidol-induced oral dyskinesia in rats. **Eur J Pharmacol**, v. 212, p. 43-49, 1992.

KLAWANS, H.L.; ILAHI, M.M.; SHENKER, D. Theoretical implications of the use of L-dopa in parkinsonism. **Acta Neurol Scand**, v. 46, p. 409-441, 1970.

LEVIN, E. D. Chronic haloperidol administration does not block acute nicotine-induced improvements in radial-arm maze performance in the rat. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 58, n. 4, p. 899-902, 1997.

LEVIN, E. D.; GALEN, D. M., ELLISON, G. D. Chronic haloperidol effects on oral movements and radial-arm maze performance in rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 26, n. 1, p. 1-6, 1987.

LEVIN-ALLERHAND, J. A.; LOMINSKA, C. E.; SMITH, J. D. Increased amyloid-levels in APPSWE transgenic mice treated chronically with a physiological high-fat high-cholesterol diet. **J Nutr Health Aging**, v. 6, p. 315-319, 2002.

LEVIN, E. D.; REZVANI, A. H. Nicotinic interactions with antipsychotic drugs, models of schizophrenia and impacts on cognitive function. **Biochem Pharmacol**, v. 74, p. 1182-1191, 2007.

LOHR, J. B.; KUCZENSKI, R.; NICULESCU, A. B. Oxidative mechanisms and tardive dyskinesia. **CNS Drugs**, v. 17, n. 1, p. 47-62, 2003.

LOHR, J. B. Oxygen radicals and neuropsychiatric illness: some speculations. **Arch Gen Psychiatry**, v. 48, p. 1097-1106, 1991.

LOHR, J. B. et al. Increased indices of free radical activity in the cerebrospinal fluid of patients with tardive dyskinesia. **Biol Psychiatry**, v. 28, p. 533-539, 1990.

LOHR, J. B.; JESTE, D. V. Neuroleptic-induced movement disorders: tardive dyskinesia and other tardive syndroms. *Psychiatry Philadelphia (PA): LIPPINCOTT*, 1988.

MANTZIORIS, F.; CLELAND, L. G.; GIBSON, R. A. Biochemical effects of a diet containing foods enriched with n-3 fatty acids. **Am J Clin Nutr**, v. 72, p. 42-48, 2000.

MARKESBERY, W. R. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. **Free Radic Biol Med**, v. 23, p. 134-147, 1997.

MASSARO, M. et al. Basic mechanisms behind the effects of n-3 fatty acids on cardiovascular disease. **Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids**, v. 79, p. 109-115, 2008.

McDONALD, R.J.; WHITE, N.M. Hippocampal and nonhippocampal contributions to place learning in rats. **Behav Neurosci**, v. 109, n. 4, p. 579-93, 1995.

McGURK, S.; LEVIN, E. D.; BUTCHER, L. L. Cholinergic-dopaminergic interactions in radial-arm maze performance. **Behav Neural Biol**, v. 49, p. 234-9, 1988.

McNAMARA, R. K.; SKELTON, R. W. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. **Brain Res Rev**, v. 18, p. 33-49, 1993.

MELTZER, H. Y. et al. Neuropsychologic deficits in schizophrenia: relation to social function and effect of antipsychotic drug treatment. **Neuropsychopharmacology**, v. 14, n. 3, p. 27S-33S, 1995.

MICKLEBOROUGH, T. D. et al. Fish oil supplementation reduces severity of exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 168, p. 1181-1189, 2003.

MILLAN, M. J.; GRESSIER, H., BROCCO, M. The dopamine D₃ receptor antagonist, (+)-S 14297, blocks the cataleptic properties of haloperidol in rats. **Eur J Pharmacol**, v. 321, p. R7-R9, 1997.

MOORE, N. A. et al. The behavioral pharmacology of olanzapine, a novel atypical antipsychotic agent. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 262, p. 545-551, 1992.

MOORIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **J Neurosci Methods**, v. 11, n. 1, p. 47-60, 1984.

NAIDU, P. S. et al. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates haloperidol-induced orofacial dyskinesia. **Neuropharmacology**, v. 44, p. 1100-1106, 2003.

NAJIB, J. Tardive dyskinesia: a review and current treatment options. **Am J Ther**, v. 6, p. 51-60, 1999.

NORDOY, A. Is there a rational use for n-3 fatty acids (fish oils) in clinical medicine? **Drugs**, v. 42, p. 331-342, 1991.

PARIS, I. et al. Copper neurotoxicity is dependent on dopamine-mediated copper uptake and one-electron reduction of aminochrome in a rat substantia nigra neuronal cell line. **J Neurochem**, v. 77, p. 519-529, 2001.

PAWLOSKEY, R. J. et al. Retinal and brain accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in developing felines: the effects of corn oil-based maternal diets. **Am J Clin Nutr**, v. 65, p. 465-472, 1997.

PEET, M. et al. Essential fatty acid deficiency in erythrocyte membranes from chronic schizophrenic patients, and the clinical effects of dietary supplementation. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 55, n. 1-2, p. 71-75, 1996.

PERRY, W. J.; PERRY, P.; STAHELING, H. B. The relation between antioxidants and memory performance in the old and very old. **Journal of the American Geriatric Society**, v. 45, p. 718-724, 1997.

PILLAI, A. et al. Long-term antipsychotic treatments and crossover studies in rats: Differential effects of typical and atypical agents on the expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. **J Psychiatr Res**, v. 41, n. 5, p. 372-86, 2006.

RASMUSSEN, K.; HSU, M. A.; YANG, Y. The orexin-1 receptor antagonist SB-334867 blocks the effects of antipsychotics on the activity of A9 and A10 dopamine neurons: implications for antipsychotic therapy. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, p. 786-792, 2007.

RIEDIGER, N.D. et al. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. **J Am Diet Assoc**, v. 109, n. 4, p. 668-79, 2009.

ROCHA, J. B. T. et al. Undernutrition During Suckling Changes the Sensitivity to Haloperidol and Chlorpromazine in Two Behavioral Measures in Weaning Rats. **Pharmacol Toxicol**, v. 81, n. 3, p. 114-123, 1997.

SACHDEV, P.; SAHAROV, T.; CHTHART, S. The preventative role of antioxidants (selegiline and vitamin E) in a rat model of tardive dyskinesia. **Biol Psychiatry**, v. 46, p.1672-81, 1999.

SALEM, Jr. Omega-3 fatty acids: molecular and biochemical aspects, in: SPILLER, G.A. (Eds.). *New Protective Roles for Selected Nutrients*, Alan R. Liss, New York, SCALA: 109-228, 1989.

SAMADI, P. et al. Docosahexaenoic acid reduces levodopa-induced dyskinesias in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine monkeys. **Ann Neurol**, v. 59, p. 282-288, 2006.

SARSILMAZ, M. et al. Potential role of dietary ω -3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 69, p. 253-259, 2003b.

SARSILMAZ, M. et al. Potential role of dietary omega-3 essential fatty acids on oxidant/antioxidant balance in rat hippocampus. **Neurosci Res Commun**, v. 33, p. 114-123, 2003a.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte**, v. 10, n. 4, 2004.

SERHAN, C.N.; CHIANG, N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. **Br J Pharmacol**, v. 153, p. S200-S215, 2008.

SIMONIAN, N. A.; COYLE, J. T. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 36, p. 83-106, 1996.

SKARSFELDT, T. Differential effect of antipsychotics on place navigation of rats in the Morris water maze. A comparative study between novel and reference antipsychotics. **Psychopharmacology**, v. 124, n. 1-2, p. 126-33, 1996.

SOARES-WEISER, K. V. S.; JOY, C. Miscellaneous treatments for neuroleptic-induced tardive dyskinesia (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 2. Oxford: Update Software; 2005.

SOCCOL, M.; HEIDMANN, C.; OETTERER, M. Seafood as functional food. **Braz Arch Biol Technol**, v. 46, n. 3, p. 443-454, 2003.

SONGUR, A. et al. Hypothalamic superoxide dismutase, xanthine oxidase, nitric oxide and malondialdehyde in rats fed with fish ω -3 fatty acids. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 28, p. 693-698, 2004.

SUSSMAN, A. N., TRAN-NGUYEN, L. T. N., NEISEWANDER, J. L. Acute reserpine administration elicits long-term spontaneous oral dyskinesia. **Eur J Pharmacol**, v. 337, p. 157-160, 1997.

TADA, M. et al. Combined treatment of quetiapine with haloperidol in animal models of antipsychotic effect and extrapyramidal side: comparison with risperidone and chlorpromazine. **Psychopharmacology**, v. 176, n. 1, p. 94-100, 2004.

TEIXEIRA, A. M. et al. Influence of chronic exercise on reserpine-induced oxidative stress in rats: Behavioral and antioxidant evaluations. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 88, p. 465-472, 2008.

TOLEFSON, G. D. Cognitive function in schizophrenic patients. **J Clin Psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 31-9, 1996.

TREEDMAN, R.; ADAMS, C. E.; LEONARD, S. The alpha7-nicotinic acetylcholine receptor and the pathology of hippocampal interneurons in schizophrenia. **J Chem Neuroanat**, v. 20, n. 3-4, p. 299-306, 2000.

TSAI, G. et al. Markers of glutamatergic neurotransmission and oxidative stress associated with tardive dyskinesia. **Am J Psychiatry**, v. 155, n. 9, p. 1207-1213, 1998.

VADDADI, K. S. et al. A double-blind trial of essential fatty acid supplementation in patients with tardive dyskinesia. **Psychiatry Res**, v. 27, p. 313-323, 1989.

VADDADI, K. S. et al. Schizophrenia, tardive dyskinesia and essential fatty acids. **Schizophr Res**, v. 20, p. 287-294, 1996.

WAINWRIGHT, P. E. et al. Effects of dietary n-3 fatty acids deficiency on Morris Water-maze performance and amphetamine conditioned place preference in rats. **Nutr Neurosci**, v. 1, p. 281-293, 1998.

WAINWRIGHT, P. E. Do essential fatty acids play a role in brain and behavioral development? **Neurosci Biobehav Rev**, v. 16, p. 193-205, 1992.

WU, A.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. **J Neurotrauma**, v. 21, p. 1457-1467, 2004.

YAO, J. K.; Leonard, S.; Reddy, R. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. **Schizophr Res**, v. 42, p. 7-17, 2000.

YAVIN, E.; BRAND, A.; GREEN, P. Docosahexaenoic abundance in the brain: a bioactive to combat oxidative stress. **Nutr Neurosci**, v. 5, p. 149-157, 2002.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S.; MOSTOFSKY, D. I. Essential fatty acids and the brain: From infancy to aging. **Neurobiology of Aging**, v. 26, p. 98-102, 2005.

YEHUDA, S. *Int J Neurosci*, 35: 21-36, 1987 apud YEHUDA; SHLOMO; CARASSO, R.L. Modulation of learning, pain thresholds, and thermoregulation in the rat by preparations of free purified alfa-linolenic and linoleic acids: Determination of the optimal ω 3-to- ω 6 ratio. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 10345-10349, 1993.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S.; MOSTOFSKY, D.I. Effects of essential fatty acids preparation (SR-3) on brain biochemistry and on behavioral and cognitive functions. In: YEHUDA, S.; YEHUDA, S.; KASTIN, A.J. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 4, p. 459-471, 1980.

YEN, Y. C.; LUNG, F.W.; CHONG, M.Y. Adverse effects of risperidone and haloperidol treatment in schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 285-290, 2004.

YILMAZ, H. R. et al. The effects of n-3 polyunsaturated fatty acids by gavage on some metabolic enzymes of rat liver. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 71, p. 131-135, 2004.